



NORGE

(19) [NO]

STYRET FOR DET
INDUSTRIELLE RETTSVERN

[B] (12) UTLEGNINGSSKRIFT (11) Nr. 166185

(51) Int. Cl.⁸ C 07 D 487/04

(83)

(86) Int. inngivelsesdag og int. søknads nr. 19.10.87 PCT/US87/02727

(21) Patentsøknad nr. 882781
(22) Inngivelsesdag 23.06.88
(24) Lopedag 19.10.87
(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.

(85) Videreforingsdag 23.06.88

(41) Alment tilgjengelig fra 23.06.88

(44) Utlegningsdag 04.03.91

(72) Oppfinner THOMAS C. MALONE, Canton, MI,
JAGADISH C. SIRCAR, Ann Arbor, MI,
US

(71)(73) Søker/Patenthaver WARNER-LAMBERT COMPANY,
201 Tabor Road,
Morris Plains, NJ 07950,
US

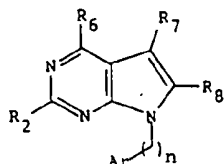
(74) Fullmektig Cand.mag. Johan H. Gørbitz,
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 24.10.86, US, nr 923521,
20.08.87, US, nr 086231.

(54) Oppfinnelsens benevnelse ANALOGIFREMANGSMÅTE FOR FREMSTILLING AV
TERAPEUTISK AKTIV 2-AMINO-7-(2-TIENYLMETYL)-
4-PYRROLO[2,3-D]PYRIMIDON ELLER ET FARMASØYTISK
AKSEPTABELT BASE- ELLER SYREADDISJONSSALT DERAV.

(57) Sammendrag

Nye 7-deazaguaniner med formelen



I

hvor R_6 er OH eller SH, R_2 er hydrogen eller NH_2 , R_7 og R_8 er uavhengig hydrogen eller NH_2 , under den forutsetning at begge ikke samtidig kan være NH_2 , n er et helt tall fra én til fire, Ar er (i) usubstituert fenyl eller fenyl substituert med halogen, trifluormetyl, alkyl med én til fire karbonatomer, hydroksy eller alkoksy med fra én til fire karbonatomer, (ii) 2- eller 3-tienyl eller (iii) 2- eller 3-furanyl eller et farmasøytisk akseptabelt base- eller syreaddisjonssalt derav.

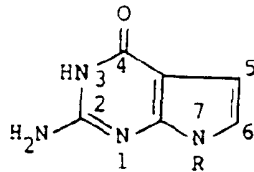
Forbindelsene er aktive som immunomodulatorer. Deres fremstilling er beskrevet.

(56) Anførte publikasjoner Tetrahedron Letters, vol. 26, nr. 16, p 2001-2002, 1985

166185

1

Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-onene med de følgende formler 2, 3 og 4



- 2, R er n-C₃H₇
- 3, R er CH₂C₆H₅
- 4, R er cyklopentyl

er kjente. R.K. Robbins et al., syntetiserte forbindelsene med formel 2 og 3 som beskrevet i J. Het. Chem. 1964, 34, men anga ingen biologisk aktivitet for noen av forbindelsene. M. Legraverend et al., beskrev syntesen av forbindelsene med formelne 3 og 4 i Tetrahedron Letters, 1985, 2001, men igjen ble det ikke anført noen biologisk aktivitet for noen av forbindelsene.

De følgende referanser danner en bakgrunn av mindre interesse, hvor en 7-(substituert fenyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-on med en metylgruppe i hver av fem (5)- og seks (6)-stillingene til behandling av CNS-sykdommer eller inflammasjoner, er generisk omhandlet i US-patent 4.229.453. Tilsvarende er 4-merkapto-7-(substituert eller usubstituert fenyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-derivater, som krever en alkylgruppe eller fenylgruppe i fem (5)- eller seks (6)-stillingene, omhandlet i Tysk 3145287 (Derwent Abstract nr. 49344 K/21). Andre pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-oner eller -tioner, som skilles ved å ha forskjellige substituenten i fem (5)-stillingen, finnes i US-patenter 4.435.570 og 4.140.851, Europeiske publikasjoner 160.910 (Derwent Abstract nr. 85-284574/46), 89.055 (tilsvarende US-patent 4.571.423), 119.591 (Derwent Abstract nr. 84-238735/39), 79.447 (tilsvarende US-patent 4.435.569), Tysk 3.306-390 (Derwent Abstract nr. 39438 E/20), Tysk 3145287 (Derwent Abstract nr. 49344 K/21), Britisk patent 981.458 (Derwent Abstract nr. 15.454), Japansk J6 0204.788 (Derwent

166185

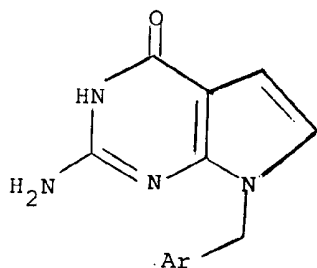
2

Abstract nr. 85/298810/48) og Japansk J5 9036615 (Derwent Abstract nr. 84-086061/84).

Endelig er hydrokso- og merkapto-analoge av antibiotikaet sparsomycin A, pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-on eller -tion med en sukkerdel i syv (7)-stillingen, beskrevet av Upjohn i Nederlandsk 6.407.785 (Derwent Abstract nr. 15.466) og tilsvarende av Warner-Lambert i Europeisk publikasjon 57.548 (Derwent Abstract nr. 68572 E/33).

De alment tilgjengelige norske patentsøknader 85.4050 og 87.3584 omhandler lignende aktivitet som den som nå er funnet for foreliggende oppfinnelse for andre ringsystemer.

Den foreliggende oppfinnelse angår en analogifremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse med formel I



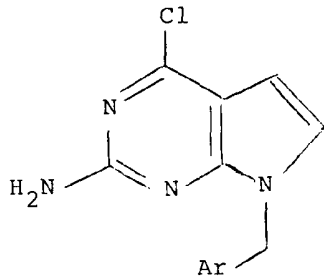
I

hvor Ar er 2-tienyl, eller et farmasøytisk akseptabelt base- eller syreaddisjonssalt derav.

Det hittil ukjente mellomprodukt som anvendes ved fremgangsmåten ifølge den foreliggende oppfinnelse, er en forbindelse med formel X

166185

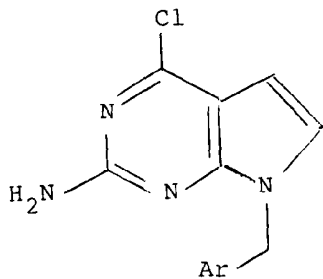
3



X

hvor Ar er som ovenfor.

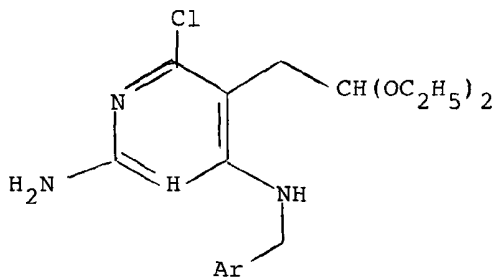
Fremgangsmåten i henhold til foreliggende oppfinnelse for fremstilling av den hittil ukjente forbindelse med formel I kjennetegnes ved at man behandler en forbindelse med formel X



X

hvori Ar har den ovenfor angitt betydning, med HCl i etanol under tilbakeløpskjøling for å oppnå forbindelsen med formel I.

Forbindelsen med formel X kan fremstilles ved at man behandler en forbindelse med formel IX



hvor Ar har den ovenfor angitte betydning, med HCl i etanol ved

166185

4

temperatur, og derefter med en base, så som ammoniumhydroksyd for å oppnå forbindelsen med formel X.

De ovennevnte fremstillinger gjør bruk av standard-synteseteknikker eller teknikker som vist, eller tilsvarer de som er vist i de etterfølgende eksempler. Utgangsmaterialene for fremstillingen er lett tilgjengelige, kjente eller kan fremstilles ved hjelp av kjente fremgangsmåter.

Fremstillingsmetoden ifølge den foreliggende oppfinnelse er sammenfattet i det følgende skjema I.

166185

6

Under visse omstendigheter kan det være nødvendig å beskytte enten N eller O i mellomproduktene i den ovenfor angitte fremgangsmåte, med egnede beskyttende grupper, som er kjente. Innføring og fjerning av slike egnede oksygen- og nitrogen-beskyttende grupper er velkjente innenfor den organiske kjemi, se f.eks. (1) "Protective Groups in Organic Chemistry", J.F.W. McOmie, ed., (New York, 1987), s. 43, 95, (2) J.F.W. McOmie, "Advances in Organic Chemistry", vol. 3, 191-281 (1963); (3) R.A. Borssonas, "Advances in Organic Chemistry", vol. 3, 159-190 (1963); og (4) J.F.W. McOmie, Chem & Ind., 603 (1979).

Eksempler på egnede oksygen-beskyttende grupper er benzyl, t-butyl, dimetylsilyl, metyl, isopropyl, etyl, tertiær butyl, etoksyetyl og lignende. Beskyttelse av en N-H-holdig del er nødvendig for noen av de her beskrevne fremgangsmåter for fremstilling av forbindelser ifølge oppfinnelsen. Egnede nitrogen-beskyttende grupper er benzyl, trifenylmetyl, trialkylsilyl, trikloretylkarbammat, trikloretoksykarbonyl, vinyloksykarbammat og lignende.

Under visse omstendigheter er det nødvendig å beskytte to forskjellige oksygenatomer med ulike beskyttende grupper, slik at én kan fjernes selektivt mens den andre bibeholdes. Benzyl- og t-butyldimetylsilyl-gruppene anvendes på denne måte, idet den ene kan fjernes i nærvær av den andre, hvorved benzyl kan fjernes ved katalytisk hydrogenolyse og t-butyldimetylsilyl kan fjernes ved omsetning med f.eks. tetra-n-butylammoniumfluorid.

Ved den her beskrevne fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser ifølge oppfinnelsen, er kravene til beskyttende grupper velkjente for fagmannen innenfor organisk kjemi, og anvendelsen av passende beskyttende grupper er derfor nødvendigvis underforstått ved fremgangsmåten ifølge det her viste skjema, selvom det ikke er direkte vist.

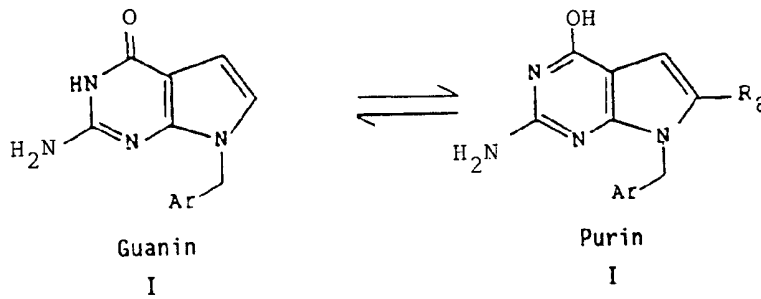
Produktene fra den her beskrevne fremgangsmåte isoleres ved hjelp av konvensjonelle teknikker, så som ekstraksjon, destillasjon, kromatografi og lignende.

Saltene av den ovenfor beskrevne forbindelse med formel I fremstilles ved å omsette den passende base med en støkiometrisk

ekvivalent mengde av syreforbindelsene med formel I, for å oppnå farmakologisk akseptable salter derav.

Forbindelsen fremstilt ifølge oppfinnelsen kan også eksistere i hydratiserte eller solvatiserte former.

Forbindelsen med formel I fremstilt ifølge den foreliggende oppfinnelse, eksisterer i tautomere former som vist nedenfor. Begge former omfattes av formel I.



Forbindelsen med formel I er nyttige såvel i den frie baseform som i form av basesalter, hvor det er mulig, og i form av syreaddisjonssalter. Fremstilling av de tre formene faller innenfor oppfinnelsens rammer. I praksis svarer anvendelse av saltformen til anvendelse av baseformen. Passende farmasøytisk akseptable salter er slike som avledes av mineralsyrer, så som saltsyre og svovelsyre samt organiske syrer så som metansulfonsyre, benzensulfonsyre, p-toluensulfonat og lignende, eller slike som avledes av baser så som egnede organiske og uorganiske baser. Eksempler på egnede uorganiske baser til dannelse av salter av forbindelsen fremstilt ifølge oppfinnelsen, omfatter hydroksydene av ammoniakk, natrium, litium, kalium, kalsium, magnesium, aluminium, sink og lignende.

Salter kan også dannes med egnede organiske baser. Baser som er egnet til dannelse av farmasøytisk akseptable baseaddisjonssalter med forbindelsen fremstilt ifølge den foreliggende oppfinnelse, inkluderer organiske baser, som er ugiftige og tiltrekkelig sterke til å danne slike salter. Disse organiske baser danner en klasse hvis grenser lett forstås av fagmannen. Som illustrasjon kan klassen sies å inkludere mono-, di- og

166185

8

trialkylaminer, så som metylamin, dimetylamin og trietylamin, mono-, di- eller trihydroksyalkylaminer, så som mono-, di- og trietanolin, aminosyrer så som arginin og lysin, guanidin, N-metyl-glukamin, L-glutamin, N-metyl-piperazin, morfolin, etylendiamin, N-benzylfenetylamin, tri(hydroksymetyl)aminometan og lignende. (Se f.eks. "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., (1977), 66(1):1-19).

Syreaddisjonssaltene av den basiske forbindelsen fremstilles enten ved å oppløse den frie base av forbindelse I i vandig eller vandig alkoholoppløsning eller egnede oppløsningsmidler inneholdende den passende syre eller base, og isolere saltet ved inndampning av oppløsningen eller ved å omsette den frie base av forbindelse I med en syre, samt ved å omsette forbindelse I med en sur gruppe og deretter med en base, slik at reaksjonene skjer i et organisk oppløsningsmiddel, i hvilket tilfelle saltet utskilles direkte eller kan oppnås ved konsentrering av oppløsningen.

Forbindelsen med formel I fremstilt ifølge den foreliggende oppfinnelse, er påvist å ha signifikant enzymhemmende aktivitet og cytotoxisk aktivitet. I purin-nukleosid-fosforylase (PNP-4) enzymprøven, oppnås en IC₅₀-verdi ved en dose på 1,0 mikromol av forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse. PNP-4-aktivitet for forbindelsen med formel I måles radiokjemisk ved å måle dannelsen av [¹⁴-C]hypoksantin ut fra [¹⁴-C]inosin (Biomedicine, 33, 39 (1980)) under anvendelse av human-erytrocytt som enzymkilde.

Det er kjent at en in vivo-hemming av purin-nukleosid-fosforylase (HPLC-1) enzymprøven også kan anvendes i det vesentlige som beskrevet i "Annals of New York Academy of Sciences", vol. 451, s. 313 (1985) for ytterligere å vise aktiviteten av forbindelsen med formel I fremstilt ifølge den foreliggende oppfinnelse. De beskrevne sammensetninger er også ved en standardtest (HTBA-1) (Science, 214, 1137, (1981)) generelt påvist å være selektivt cytotoxiske for T-celler i nærvær av 2'-deoksyguanosin ved et tilsvarende konsentrasjonsområde, og ikke-toksiske overfor B-celler i nærvær av samme mengde 2'-deoksyguanosin som av forbindelsen ifølge Eksempel 2, hvilket demonstrerer anvendeligheten av forbindelsen med formel

I i de her beskrevne farmasøytiske sammensetninger. Da PNF-hemming og fjerning av T-celler eller modulering av T-celler er kjent å være egenskaper hos forbindelser som er nyttige i behandlingen av psoriasis, avstøtningsfenomener ved transplantasjon og autoimmune sykdommer, vil de omtalte sammensetninger av forbindelsen, som er selektivt cytotoxiske overfor T-celler og som er PNP-hemmere, derfor også være verdifulle til slik behandling. Det er for eksempel vist at 8-aminoguanosin, en kjent PNP-hemmer, er effektiv for å hemme avstøtning av hudtransplantater på hunder. (J.B. Benear et al., Transplantation, 1986, 41:274). Klinisk er det blitt vist at modulering og/eller fjerning av T-celler ved hjelp av brystkanal-dren, lymfaforese eller total lymfoid bestråling, ga partiell til fullstendig lindring for reumatoid artritt hos pasienter som var totalt hårdnakkede overfor andre terapiformer (A. Tanay et al., Arthritis and Rheumatism, vol. 30, nr. 1, s. 1 (1987). S. Strober et al., Annual of Internal Medicine, vol. 102, nr. 4, 441-449 (1985), H.G. Nusslein et al., Arthritis and Rheumatism, vol. 28, nr. 11, 1205-1210 (1985), E. Brahn et al., ibid, vol. 27, nr. 5, 481-487 (1984) og J. Karsh et al., ibid, vol. 24, nr. 7, 867-873 (1981)). Cyklosporin A, en T-celle-modulator, viste gunstige virkninger i behandlingen av juvenil diabetes. (A. Assan et al., The Lancet, 12. januar, s. 67 (1985). Videre er cyklosporin A idag det foretrukne legemiddel til lindring av transplantat-avstøtning (R.M. Merion et al., New England J. Med., (1984) 148). Senere er cyklosporin A blitt påvist å være nyttig til behandling av psoriasis. Videre forstås det at cyklosporin-terapi er påvist å markert redusere aktiverte T-celler ved psoriatiske lesjoner. Derfor er det rimelig å anta at grunnlaget for vellykket behandling av psoriasis er modulering av T-celle-aktivitet slik som vist av forbindelser ifølge den foreliggende oppfinnelse. (Se C.N. Ellis et al., JAMA, vol. 256, nr. 22, 12. desember, 1986, 3110-3116). Endelig er det påvist at cyklosporin A er effektiv ved reumatoid artritt. (M.E. Weinblatt et al., Arthritis and Rheumatism, vol. 30, nr. 1, 11-17 (januar 1987). O. Forre et al., Arthritis and Rheumatism, vol. 30, nr. 1, 88-92 (januar

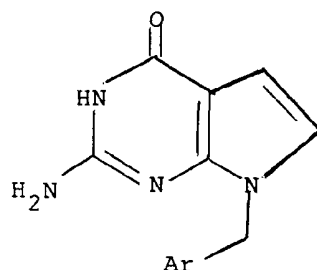
166185

10

1987), M. Dougados et al., Arthritis and Rheumatism, vol., 30, nr. 1, 83-87 (januar 1987).

Resultater oppnådd med forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse er vist i den følgende aktivitetstabell.

AKTIVITETSTABELL



Antall	Ar	PNP-4 IC ₅₀ (μM)	HTBA-1 T-celle + 10 μM 2'-d Gua, IC ₅₀ μM
2	2-Th	1,0	2,3

Th = tiofen

In vivo-studier basert på det ovenfor anførte kan anvendes for å bestemme aktivitet i de særlig anførte sykdomstilstander.

Da T-celler spiller en sentral rolle i immunforsvaret, antas den omtalte forbindelse å kunne anvendes til immunoregulering til forebyggelse av avstøtning ved transplantasjon, eller til behandling av psoriasis og til behandling av autoimmune sykdommer, så som reumatoid artritt, systemisk lupus erythematosus, inflammatorisk tarmsykdom, multippel sklerose, myastenia gravis, podagra eller giktaktig artritt, juvenil diabetes, cancer og virale sykdommer. Den omtalte forbindelser egenskaper kan utnyttes ved at det til et varmblodig dyr administreres en effektiv mengde av en farmasøytisk sammensetning som inneholder minst 0,1 vektprosent aktiv bestanddel, basert på den totale vekt av sammensetningen av forbindelsen fremstilt ifølge oppfinnelsen.

Farmasøytiske sammensetninger kan formuleres på enhver egnet måte, fortrinnsvis med en inert bærer, for administrering oralt, parenteralt, oftalmisk, lokalt eller som suppositorier.

For eksempel formuleres den omtalte forbindelse i doseringsformer, så som tabletter eller siruper, ved blanding med et inert farmasøytisk bæremiddel, så som laktose eller vanlig sirup, ved hjelp av i og for seg kjente metoder. Til injiserbare doseringsformer formuleres den med bæremidler så som vann, propylenglykol, jordnøttolje, sesamolje og lignende. I disse doseringsformer er den aktive bestanddel fra ca. 0,05 til 0,5 g per enhetsdose.

Oppfinnelsen belyses ytterligere ved hjelp av de følgende eksempler.

EKSEMPEL 1

2-amino-6-[(2-tienylmetyl)aminol]-4-pyrimidinol

2-amino-6-klor-4-pyrimidinol, monohydrat (85%, 100 g, 0,5197 mol) ble suspendert i metoksyetanol (700 ml), og 2-tienylmetylamin (96%, 61,3 g, 0,5197 mol) ble tilsatt til suspensjonen. Blandingen ble oppvarmet under tilbakeskjøling i 2 timer og deretter tilsatt 73 ml ($d = 0,726$, 0,52 mol) trietylamin, og tilbakeskjølingen ble fortsatt i ytterligere 18 timer. Reaksjonsblandingen ble helt i isvann (1000 ml), surgjort med eddiksyre (pH 4,0) og det utfelte faststoff frafiltrert, vasket og tørket. Utbytte: 110 g (72,6%). Dette ble benyttet i det neste trinn uten ytterligere rensing.

EKSEMPEL 2

2-amino-7-(2-tienylmetyl)-4-pyrrolo[2,3-d]pyrimidoner

Kloracetaldehyd-dimetylacetal (14 ml) ble tilsatt til vann (50 ml) og konsentrert HCl (2,0 ml). Blandingen ble oppvarmet til tilbakeskjølingstemperatur i 30 minutter og nøytralisert med natriumacetat (10 g). Den resulterende oppløsning ble i én porsjon tilsatt til en blanding av 2-amino-4-(2-tienylmetyl)-6-pyrimidon (10 g, 45 mmol), natriumacetat (5,0 g) og varmt vann (50 ml). Blandingen fikk stå under omrøring på et dampbad (80°C) i 30 minutter, det utfelte faststoff ble frafiltrert, vasket med vann og tørket i vakuum. Det rå produkt ble oppløst

166185

12

i metanol og konsentrert HCl og behandlet med aktivkull for å fjerne farvestoff. Det således oppnådde produkt (3,2 g) ble omkrystallisert fra metanol og 1N HCl (100 ml) for å danne 1,68 g (13,5%) av det ønskede produkt som et lysebrunt faststoff, smp. 243-245°C (dekom.).

2-amino-4-klor-6-[(2-tienylmetyl)amino]-5-(2,2-dietoksyetyl)-pyrimidin

En oppløsning av 2-amino-4,6-diklor-5-(2,2-dietoksyetyl)-pyrimidin (M. Legraverend et al., J. Med. Chem., 1985, 28:1477) (906 mg, 3,20 mmol) i 40 ml n-butanol inneholdende Et₃N (1 ml) og 2-tienylamin (425 mg, 3,75 mmol), ble oppvarmet til 100°C i 48 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til 25°C og konsentrert. Residuet ble rensert ved hjelp av søylekromatografi på silikagel og eluert med kloroform for å danne det ønskede produkt (1,045 g) (91,5%), som en gul olje.

2-amino-4-klor-7-(2-tienylmetyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

En suspensjon av 2-amino-4-klor-6-[(2-tienylmetyl)amino]-5-(2,2-dietoksyetyl)pyrimidin, (1,0 g, 2,80 mmol) i 65 ml 0,3N HCl og etanol (2,25:1) ble omrørt ved 25°C i 24 timer. Reaksjonsblandingen ble nøytralisert med ammoniumhydroksydoppløsning, og produktet ble oppsamlet ved filtrering. TLC-analyse viste at reaksjonen ikke var fullstendig, og produktet ble derfor resuspendert i 50 ml 0,2N HCl og omrørt i 48 timer. Reaksjonsblandingen ble nøytralisert med NH₄OH-oppløsning og konsentrert. Residuet ble oppsamlet i vann og deretter inndampet til tørrhet under dannelse av et gult faststoff (573 mg) (77,3%). Dette ble anvendt i det neste trinn uten ytterligere rensing.

2-amino-7-(2-tienylmetyl)-4-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

2-amino-4-klor-7-(2-tienylmetyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (563 mg, 2,10 mmol) ble suspendert i 30 ml 1N HCl og etanol (1:1) og blandingen oppvarmet under tilbakeløpskjøling i 8 timer. Fjerning av oppløsningsmiddel ga et residuum som ble kromatografert over silikagel og eluert med en blanding av heksan-etylacetat (10:1) for å danne 139 mg av en blanding av 4-klor- og 4-etoksy-derivater. Dette ble deretter oppløst i

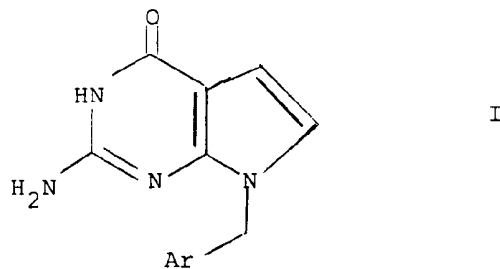
166135

13

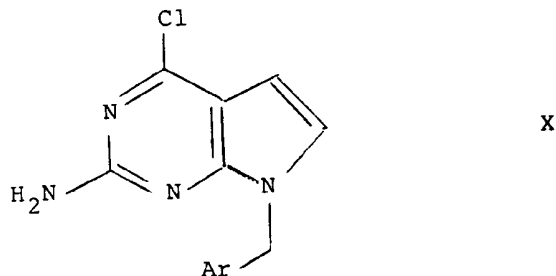
30 ml 3N HCl, og oppløsningen ble oppvarmet under tilbakeløpskjøling i 2 timer og deretter satt til avkjøling. Det utfelte faststoff ble frafiltrert og deretter krystallisert fra metanol-1N HCl- (1:1) blanding for å danne 55 mg av det ønskede produkt som hydrokloridsalt, smp. 235-237°C (dekomp.).

P a t e n t k r a v

Analogifremgangsmåte for fremstilling av en terapeutisk aktiv forbindelse med formel I



hvor i Ar er 2-tienyl, eller et farmasøytisk akseptabelt base- eller syreaddisjonssalt derav, karakterisert ved at man behandler en forbindelse med formel X



hvor i Ar har den ovenfor angitte betydning, med HCl i etanol under tilbakeløpskjøling for å oppnå en forbindelse med formel I, som eventuelt omdannes til et farmasøytisk akseptabelt salt.